

Exposés de l'équipe médicale

De nombreux membres de l'équipe médicale ont participé à l'après-midi consacrée aux exposés médicaux à l'occasion de l'AG de CADASIL France : M. le Professeur Hugues CHABRIAT (chef du service neurologie de l'hôpital Lariboisière, coordonnateur du CERVCO, Centre de Référence des maladies Vasculaires rares du Cerveau et de l'Œil), Mme le Dr Anne JOUTEL (directrice de Recherche à l'INSERM, en charge des recherches biologiques et génétiques sur CADASIL), Mme Annie KURTZ (psychologue du service neurologie de l'hôpital Lariboisière et membre du conseil d'administration de CADASIL France), M. le Dr Dominique HERVE (praticien hospitalier, neurologue, en charge du CERVCO), M. le Dr Eric JOUVENT (maître de conférence des Universités - praticien hospitalier, hôpital Lariboisière), Mmes Christina ROGAN, Sonia REYES et Aude JABOULEY (psychologues au CERVCO), Mme Jocelyne RUFFIE (assistante du Pr BOUSSER et du Pr CHABRIAT), M. Abbas TALEB (Attaché de Recherche Clinique), Mme Stéphanie MOREL (assistante sociale au CERVCO), M. Clément HUNEAU (post-doctorant), M. le Dr Christian GIROUX (neurologue, praticien hospitalier attaché au sein du service de neurologie à l'hôpital Lariboisière).

1- La recherche clinique (Pr Chabriat)

La présentation du Pr Chabriat a porté sur une étude qui va faire l'objet d'une publication prochaine. Elle a permis d'identifier des éléments cliniques et IRM qui permettent de prédire l'évolution de la maladie sur une période de trois ans. Les éléments précis qui ont été déterminés pourront servir de critères pour évaluer l'efficacité de futurs essais de traitements.

A- Etude des prédicteurs de l'aggravation clinique dans CADASIL. Etude prospective de 290 patients suivis pendant trois ans.

Pour être inclus dans cette étude, le patient devait être porteur du gène muté *NOTCH3*.

Elle a été réalisée sur 290 patients, dont environ la moitié suivie au CERVCO et l'autre en Allemagne, à Munich.

Quelques participants ont quitté l'étude durant la période de trois ans (pour différentes raisons : délai trop long pour venir à un rendez-vous intermédiaire, aggravation de la maladie empêchant un déplacement, décès, etc.). Certains ont été contactés à leur domicile par l'équipe du CERVCO afin d'obtenir des informations sur l'évolution de leur maladie, mais cela ne permettait pas de collecter tous les paramètres.

Au total, 236 participants ont constitué la cohorte, dont l'âge moyen était 50 ans.

De nombreuses données ont été réunies pour chacune des personnes, sur les mêmes critères, avec les mêmes

intervalles entre deux évaluations. Leur consentement était demandé.

Des moyens ont été nécessaires pour constituer une base de données, alimentée progressivement pour réunir les informations sur trois ans de chaque participant. Cette base de données a été traitée par une société spécialisée, Orgamétrie, ce qui a nécessité un financement.

Au cours de la première visite, des questions ont été posées au plan clinique : le patient avait-il fait un accident ischémique transitoire ou constitué (accident cérébral qui est marqué par la trace d'un petit infarctus à l'IRM), et/ou une crise d'épilepsie, se plaignait-il de troubles de la marche, de la mémoire, de l'attention, de la concentration, d'irritabilité ou de dépression, quel était son âge, son niveau d'éducation (ce qui a un impact sur les tests), présentait-il des facteurs de risques (diabète, hypertension, hypercholestérolémie, tabac, alcool, etc.)

Des examens ont aussi été réalisés (prélèvement sanguin et mesure du cholestérol).

Egalement, l'évaluation de chaque patient comportait la mesure du handicap selon une échelle (Rankin : 0 et 1 : pas de handicap ; 2 : petite gêne ; 3 : besoin d'aides ponctuelles ; 4 : besoin d'aide dans la vie courante ; 5 : handicap important).

De plus, des tests ont été réalisés avec un psychologue pour établir une mesure du score MMS (Mini Mental Score).

En IRM, on a mesuré l'anatomie du cerveau (son volume rapporté à la taille de la cavité intracrânienne), fait une recherche de lacunes (petits infarctus visibles sous forme de petits trous), compté celles-ci et vérifié leur volume, recherché des micro-saignements (il s'agit de

« tatouages », petites marques liées au fer de globules de sang qui ont quitté le vaisseau).

La cohorte était constituée de 55 % de femmes.

19 % des participants avaient une hypertension, 40 % une hypercholestérolémie, 30 % des troubles de la marche et 30 % de l'équilibre, 40 % indiquaient avoir eu des migraines avec aura, 65 % un accident ischémique transitoire ou un AVC, 18% avaient un handicap modéré ou sévère, 13,5 % un déficit cognitif perturbant leur vie quotidienne.

A l'IRM, les participants présentaient en moyenne cinq lacunes (petites cavités cérébrales), un sur trois avait des micro-saignements et le volume cérébral moyen par rapport à la capacité de la boîte crânienne était 85 %.

Les résultats collectés au début de la période de trois ans et à la fin de ce délai pour tous les participants, complétés par un suivi intermédiaire, ont été analysés, ce qui a permis de montrer que :

- Si un patient présente des troubles de la marche, le risque de faire un AVC après une période de trois ans est multiplié par 4,6.
- S'il a déjà fait un AVC, le risque d'un nouvel AVC est multiplié par 4.
- S'il fume, le risque d'AVC est multiplié par 2,2.
- Le risque de handicap est augmenté chez les personnes ayant un déficit cognitif ou des troubles de la marche.
- Plus la personne a un handicap, plus le risque de déclin cognitif est élevé (si son score de Rankin est 3, le risque est augmenté de 25 %).
- Le tabagisme triple le risque de déclin cognitif.
- Le fait d'être de sexe masculin augmente le risque de développer une forme grave de la maladie plus précocement.

D'un point de vue clinique, on peut donc dire que les troubles de la marche, le tabagisme et les AVC sont des indicateurs pronostiques dans CADASIL.

Par l'analyse des images IRM sur trois ans, les résultats suivants ont été obtenus :

- Le risque d'AVC est augmenté chez les personnes ayant plus de trois lacunes (infarctus) et des micro saignements.
- La survenue de handicap est corrélée au volume cérébral initial.
- Le déficit cognitif pourrait être associé au volume cérébral et aux micro saignements.

Au total, à l'IRM, les éléments associés aux AVC ou au déclin cognitif ou au handicap sont : la présence de plus de trois lacunes à l'IRM, un volume du cerveau réduit et le nombre de micro saignements.

Ces marqueurs de l'examen neurologique et de l'IRM sont donc à prendre en compte pour prédire l'évolution de la maladie d'un patient au cours du temps.

En conclusion, chez les patients qui ont une maladie de CADASIL et suivis sur trois ans :

- la survenue d'un AVC dans le passé est associée à une augmentation du risque d'AVC dans les trois ans (quatre fois plus de risque que ceux qui n'en ont pas eu).
- la survenue d'un nouvel AVC au cours du suivi n'est pas significativement associée à un déclin cognitif (certains patients récupèrent très vite).
- la présence d'un handicap modéré ou sévère est un prédicteur d'aggravation clinique au cours des trois ans.
- le tabagisme actif double le risque d'AVC et triple celui de déclin cognitif sur trois ans.
- les patients ayant plus de trois lacunes à l'IRM ont un risque d'AVC augmenté cinq fois.
- le volume cérébral réduit est un facteur prédicteur de l'évolution clinique.

Toutes ces connaissances vont être essentielles pour préparer les essais thérapeutiques de demain.

Le coût de cette étude peut être estimé à environ 1 million d'euros. Ce budget a été financé grâce à des aides ministérielles, dans le passé, (deux Programmes Hospitaliers de Recherche Clinique), à des subventions obtenues par l'ARNEVA (Association pour la Recherche NEuroVAsculaire à l'hôpital Lariboisière), à CADASIL France qui finance en partie le salaire d'un Attaché de Recherche Clinique depuis plusieurs années, etc., sans compter l'investissement en temps et la motivation de l'équipe du CERVCO.

B- Nombre de sujets nécessaires pour une étude de traitement.

Grâce à la connaissance des facteurs prédictifs d'évolution clinique, des calculs mathématiques permettent de déterminer des critères pour évaluer l'efficacité des traitements et de déterminer le nombre de personnes nécessaires pour participer à l'évaluation d'un traitement.

Ainsi, si on voulait mesurer l'efficacité d'un traitement selon son impact sur la survenue des AVC, pour faire diminuer le risque sur trois ans de 20 à 10%, il faudrait 394 participants.

Si on prend en compte le fait d'avoir un AVC, ou un déclin cognitif ou un petit handicap, la probabilité d'un de ces événements est de 41 % sur une période de trois ans. 144 participants pourraient permettre de prouver l'efficacité d'un traitement qui diminuerait ce risque de moitié.

L'objectif est d'explorer toutes les combinaisons possibles à partir des données actuelles et de les utiliser pour préparer un essai thérapeutique qui soit faisable, qui ne coûte pas trop cher du fait d'un nombre de participants qui ne soit pas trop important mais suffisant pour prouver l'efficacité.

La base de données va toujours être alimentée à partir du suivi des patients (certains le sont depuis 2003) bien qu'il n'y ait plus de financement spécifique pour cela. Les connaissances vont donc continuer à s'enrichir.

Un délai de quelques années est encore nécessaire avant d'envisager l'évaluation d'un traitement chez l'homme. Il faut aussi des moyens financiers et humains.

Il faut penser à des traitements agissant sur le développement des symptômes, mais également à des stratégies innovantes qui pourraient avoir plus d'impact.

Des paramètres qui ne sont pas ressortis des facteurs prédictifs seraient aussi à rendre en compte. Notamment, la mesure de la pression artérielle est faite de façon ponctuelle lors des consultations de suivi, alors que contrôler la variation de la pression sur 24H, même si elle est normale, pourrait être aussi intéressant.

Déjà, une démarche préventive est adoptée quand l'aspirine est prescrite à des patients, de façon empirique. De façon globale, on sait que la formation d'un caillot favorise la survenue d'un AVC. L'aspirine et le Kardegic sont des antiplaquettaires qui diminuent le risque de formation de petits caillots de plaquettes qui bouchent les vaisseaux. On les recommande donc généralement si on voit un infarctus à l'IRM. Mais il n'y a pas de preuve que ce soit réellement efficace dans CADASIL.

Pour précision, un infarctus c'est une lésion dans le cerveau responsable d'un AVC, une zone qui a souffert. Selon leur localisation, des infarctus peuvent être silencieux et ne provoquer aucun symptôme.

2- La recherche génétique (Dr Joutel)

Au cours de l'année écoulée, le Dr Joutel a poursuivi ses travaux de recherche, avec son équipe, en amont de la recherche clinique. Le but est de comprendre les mécanismes de la maladie pour essayer d'élaborer des stratégies thérapeutiques, en relation avec l'équipe du Pr Chabriat.

Une personne porteuse d'une mutation dans le gène *NOTCH3* à la naissance va développer avec le temps des lésions des vaisseaux et du cerveau. Initialement, ces lésions ne provoquent aucune gêne et n'ont aucun impact sur la vie quotidienne. Il s'agit d'une accumulation de la protéine NOTCH3 au niveau des vaisseaux qui peut être détectée par une biopsie de peau, d'hypersignaux de la substance blanche (taches blanches), voire de petits infarctus cérébraux, qui sont visibles à l'IRM du cerveau. Cette personne porteuse d'une mutation du gène *NOTCH3* est dite asymptomatique car elle ne présente pas de symptômes cliniques.

Avec l'évolution de la maladie, des troubles cliniques apparaissent, entraînant une gêne ou un handicap. La maladie de CADASIL est alors perçue par le patient, elle est dite symptomatique.

Plusieurs stratégies de traitement peuvent être envisagées.

Très schématiquement, un traitement donné au stade asymptomatique de la maladie aura pour but de prévenir ou de ralentir la progression des lésions des vaisseaux et du cerveau, et donc de prévenir ou de ralentir l'apparition des symptômes cliniques et du handicap. Ce type de traitement peut être qualifié de préventif puisqu'il agit avant que la personne ressente l'effet de la maladie.

Un traitement donné au stade symptomatique de la maladie aura quant à lui pour but d'atténuer le handicap ou la gêne occasionnés par les lésions du cerveau.

Les modèles de souris CADASIL actuellement disponibles reproduisent les stades initiaux de la maladie. Les travaux expérimentaux menés à l'aide de ces modèles tentent de comprendre les mécanismes d'apparition des lésions des vaisseaux et du cerveau. Ils déboucheront plus vraisemblablement sur des thérapeutiques préventives.

Il est également important de rechercher des traitements pour diminuer ou traiter les symptômes que les patients ressentent comme gênants. Mais les moyens et les modèles expérimentaux pour de telles recherches sont à ce jour très limités. En particulier, il n'existe pas de modèle de souris mimant les phases avancées de la maladie.

Le passage à l'homme de thérapeutiques préventives efficaces chez la souris reste délicat dans des maladies comme la maladie CADASIL. Il pose la question de l'évaluation de l'efficacité d'un médicament donné à des personnes qui n'ont pas encore de symptômes. En effet, l'industrie pharmaceutique a besoin de fournir des preuves d'efficacité pour obtenir une Autorisation de Mise sur le Marché. Il pose aussi des questions d'ordre éthique (réalisation d'un test génétique chez des personnes asymptomatiques pour leur proposer, au cas où elles seraient porteuses de la mutation, un traitement préventif).

Des progrès ont été faits depuis un an dans plusieurs domaines.

A - Mécanismes de la dysfonction cérébro-vasculaire

Le modèle de souris CADASIL utilisé depuis 2010 sur-exprime la protéine NOTCH3 avec la mutation d'un patient. Ces souris développent avec l'âge les dépôts de NOTCH3 dans les vaisseaux, les GOM (Granular Osmiophilic Material), une dysfonction des vaisseaux

cérébraux puis les lésions de la substance blanche. D'autres laboratoires, en Europe ou aux USA, effectuent des recherches avec ce modèle. La multiplication des travaux dans le monde sur ces souris va permettre de développer de nouvelles idées et d'explorer de nouvelles pistes.

Grâce à une technique importée des USA, une chercheuse (Carmen Capone) a étudié la réactivité des vaisseaux cérébraux chez ces souris. Sur la souris vivante, anesthésiée, un petit trou est fait dans l'os de son crâne, et une sonde laser (Doppler Flow) est posée sur le cerveau pour enregistrer les variations du débit sanguin cérébral en réponse à différents stimuli. Ce trou permet également d'appliquer des substances pharmacologiques, des protéines, des anticorps, etc. Cette technique a permis de caractériser en détail les anomalies fonctionnelles des vaisseaux cérébraux chez les souris CADASIL.

Parallèlement, les propriétés mécaniques des petites artères à la surface du cerveau sont étudiées. Ces artères (d'un diamètre d'environ 150 à 160 microns) prélevées sur des souris mortes sont disséquées sous la loupe. On sait qu'une caractéristique de ces petites artères est de se contracter en réponse à une élévation de la pression « intraluminaire » en développant un « tonus myogénique ». Les travaux du laboratoire montrent que le tonus myogénique des artères cérébrales est très altéré chez les souris CADASIL.

Aux Etats-Unis, le laboratoire du Dr Mark Nelson, qui collabore avec l'équipe française depuis trois ans, peut disséquer des artères de l'intérieur du cerveau. Il s'agit de vaisseaux extrêmement petits, d'un diamètre d'environ 20 microns. Les souris CADASIL ont été transférées dans ce laboratoire américain. Le laboratoire de Mark Nelson a montré que le tonus myogénique de ces artères intracérébrales était également très altéré. Céline Baron-Menguy, Ingénieure dans l'équipe du Dr Joutel, est allée passer une semaine dans le laboratoire du Dr Nelson pour apprendre cette technique de pointe.

Une autre technique est pratiquée par l'équipe du Dr Nelson : les cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux cérébraux (celles où la protéine mutée joue un rôle) sont isolées et les courants ioniques (structures à la surface de la cellule qui font passer des ions comme du potassium, du chlore, du calcium) sont enregistrées. Le laboratoire du Dr Nelson a montré que la réduction du tonus myogénique dans les artères des souris CADASIL était causée par une hyperactivité des canaux potassiques au niveau des cellules musculaires lisses.

Récemment, le laboratoire du Dr Joutel a identifié dans les GOM des protéines qui s'accumulent anormalement comme la conséquence de l'accumulation de la protéine NOTCH3 mutée : TIMP3, vitronectine, et quelques autres protéines. Les souris CADASIL ont été croisées avec des

souris qui expriment une quantité réduite de moitié de TIMP3 ou plus du tout de TIMP3, une quantité réduite de vitronectine ou plus du tout de vitronectine. Des souris sur exprimant la protéine TIMP3 ont également été générées. On a laissé vieillir ces différents types de souris, en suivant l'évolution de leur maladie.

Grâce à ce type d'expériences, le laboratoire a montré que l'accumulation anormale de la protéine TIMP3 était responsable de la dysfonction cérébro-vasculaire.

Ainsi, on commence à comprendre les mécanismes de la maladie au niveau du vaisseau, puis de la cellule musculaire lisse et des canaux de la cellule, et on connaît de façon assez précise le mécanisme qui va de la mutation à la dysfonction des vaisseaux.

On a appris par ces approches que la mutation du gène *NOTCH3* entraîne l'accumulation de protéine NOTCH3, qui elle-même provoque l'augmentation de la quantité de protéine TIMP3 et toute une succession d'événements. Cette cascade aboutit à l'augmentation de l'expression des canaux potassiques à la surface des cellules musculaires lisses, ce qui va diminuer le tonus du vaisseau et provoquer sa dysfonction.

B - Point sur les mécanismes des lésions de la substance blanche, au stade initial.

Une avancée avait été faite l'année précédente par un neurologue qui a préparé sa thèse dans l'équipe du Dr Joutel, Emmanuel Cognat. Il avait caractérisé les lésions de la substance blanche dans le modèle de souris CADASIL et trouvé un marqueur qui permettait de les quantifier.

Le laboratoire continue à explorer la signification exacte des lésions de la substance blanche observées chez les souris CADASIL. En particulier, l'aspect en IRM de ces lésions va être comparé avec celui des lésions observées chez les patients. Cette réflexion est menée avec le Pr Chabriat et le Dr Jouvent.

Le laboratoire a découvert que l'accumulation anormale de la vitronectine contribue significativement aux lésions de la substance blanche.

En effet, quand on croise une souris CADASIL avec une souris qui n'exprime plus la vitronectine, ou une quantité réduite, on est capable d'atténuer de façon très significative les lésions de la substance blanche.

Comme indiqué précédemment, l'accumulation de TIMP3 a un impact sur la dysfonction cérébro-vasculaire. Par contre, elle ne semble pas intervenir dans les lésions de la substance blanche : si on interfère sur la quantité de TIMP3 cela ne change pas la sévérité des lésions de la substance blanche.

Les travaux réalisés suggèrent le mécanisme suivant, au stade initial de la maladie : la mutation du gène *NOTCH3*

provoque un excès de cette protéine NOTCH3, ce qui modifie l'expression d'un certain nombre d'autres protéines autour du vaisseau comme TIMP3 et la vitronectine et d'autres protéines. Chacune de ces protéines semble contribuer à l'expression de la maladie. L'excès de TIMP3 est responsable de la dysfonction des vaisseaux cérébraux et la vitronectine est responsable de la survenue des lésions de la substance blanche. D'autres protéines qui sont en cours d'exploration ont probablement aussi un lien avec certains symptômes.

Il y a encore des points d'interrogation. Notamment, une caractéristique fondamentale de la maladie est la formation des dépôts de NOTCH3. Est-ce que ce sont ces dépôts qui sont toxiques ? En amont de la fabrication de ces dépôts, ce sont peut-être les amas des premières molécules (petits paquets) de protéines NOTCH3 qui génèrent la cascade d'événements... Ces sujets doivent être étudiés pour déterminer si les dépôts devraient être éliminés par un traitement.

C - Point sur l'essai préclinique dans CADASIL

Un composé identifié conjointement par un laboratoire pharmaceutique Danois et le laboratoire du Dr Joutel a été testé sur le modèle de souris CADASIL. Le laboratoire du Dr Joutel a montré que ce composé corrige entièrement la dysfonction des vaisseaux cérébraux dans ce modèle de souris !

Il ne s'agit pas d'un test de médicament, mais d'une preuve de concept.

Un brevet a été déposé par ce laboratoire pharmaceutique et l'Inserm. Il y a un délai d'au moins un an avant qu'il soit dans le domaine public, ce qui peut permettre de le compléter. Ensuite, la compagnie pourra décider d'investir ou non pour poursuivre l'étude. Ce financement est indispensable pour envisager un futur essai clinique chez l'homme.

Cette société de taille modérée (environ 5 000 employés), qui est spécialisée dans le développement de médicaments pour les maladies neurologiques, ne lance des essais cliniques chez l'homme que s'il y a une forte chance qu'ils soient efficaces. L'objectif serait de lancer un essai clinique dans un délai de cinq ans.

Mais de nombreux travaux sont encore nécessaires avant d'envisager un essai clinique chez l'homme.

En particulier, il est souhaitable de répliquer les résultats obtenus dans un autre modèle de souris CADASIL (qui ne sur-exprime pas la protéine mutée). Une caractérisation de ce nouveau modèle de souris obtenu auprès d'une équipe Belge constitue un préalable. Il est même possible que ce composé s'avère plus efficace chez ces souris qui ne sur-expriment pas la protéine mutée. De plus, même si l'utilisation de ce composé est partie d'une idée pertinente, son mode d'action exact reste à déterminer.

Cette étape est très importante pour élaborer le médicament final. Enfin, il faudra en étudier la toxicité.

Le jour où un essai de traitement sera envisagé, il faudra déterminer à quelles personnes il est destiné (jeunes avant d'avoir des symptômes et/ou patients à un stade plus ou moins avancé de l'évolution), le nombre de participants, les critères d'évaluation de l'efficacité, etc.

D - Point sur le projet iPS (cellules souches pluripotentes induites) : obtention d'un modèle cellulaire de CADASIL.

Lors de l'Assemblée Générale du 13 avril 2013, le Dr Joutel avait exposé un projet de recherche sur des cellules souches.

Ces travaux ont été débutés en collaboration avec le Dr Sanjay Sinha, de Cambridge en Angleterre, expert dans l'obtention des cellules musculaires lisses vasculaires à partir de cellules iPS (Induced Pluripotent Stem cells).

Pour obtenir ces cellules, une biopsie de peau a été réalisée par le Dr Hervé sur cinq patients volontaires suivis par le CERVCO afin d'isoler des fibroblastes puis de les cultiver. Ces cellules portent le génome de la personne, avec la mutation du gène *NOTCH3* de CADASIL. Elles ont été envoyées à Cambridge où les fibroblastes ont été transformées en « cellules à tout faire », appelées cellules souches pluripotentes induites. Leur reprogrammation en cellules musculaires lisses vasculaires est en cours.

L'objectif est de cultiver les cellules musculaires lisses vasculaires issues de patients ayant la maladie CADASIL afin d'étudier les raisons pour lesquelles ces cellules sont le siège de dépôts anormaux de NOTCH3 et subissent un processus de dégénérescence. Elles vont permettre de comprendre comment la protéine mutée s'agrège, d'identifier si ce sont les dépôts qui sont toxiques ou les petits paquets de quelques molécules de protéines mutées, etc. Les résultats seront beaucoup plus rapides que sur des souris (qu'il faut croiser, faire vieillir, etc.).

L'équipe du Dr Joutel est composée de trois chercheurs postdoctoraux : Lamia Ghezali, qui se consacre à l'essai préclinique, Carmen Capone, qui étudie la dysfonction vasculaire, et Julien Ratelade, qui travaille sur les mécanismes des lésions de la substance blanche et sur une autre forme de maladie des petites artères qui apportera des informations utiles pour CADASIL. Céline Baron-Menguy, ingénieur de recherche, et Véronique Domenga-Denier, Assistante Ingénieur, complètent l'équipe du laboratoire.

Egalement, un laboratoire Américano-Danois collabore actuellement avec le Dr Joutel pour étudier la clairance

glymphatique, c'est-à-dire les mouvements de liquide autour des vaisseaux dans CADASIL.

Les contributions de nouveaux chercheurs et les travaux dans différents laboratoires dans le monde suscitent de nouvelles approches, idées, méthodes, techniques et connaissances. C'est indispensable pour progresser encore. Un des nombreux défis à relever est l'obtention d'un modèle de souris mutées reproduisant les phases avancées de la maladie, c'est-à-dire, des souris qui développeraient des infarctus cérébraux, un handicap et des troubles cognitifs.

3- IRM 7 Teslas (Dr Jouvent)

A partir de la cohorte de patients suivis à Paris et à Munich, des analyses avaient permis d'identifier différents types d'hypersignaux de la substance blanche en imagerie cérébrale. Certains hypersignaux, qui sont situés sous le cortex, dans les régions temporales et sous-corticales (plus superficiels), ne semblent pas avoir le même impact que les hyper signaux situés autour des ventricules (plus profonds).

Des analyses sont donc actuellement réalisées chez quelques patients volontaires qui ont participé à l'étude IRM 7 Teslas menée par le Dr Eric Jouvent à Neurospin, pour déterminer s'il est effectivement possible de distinguer différents types de lésions de la substance blanche.

Une hypothèse pour expliquer l'apparition des hypersignaux est qu'il y a une souffrance du tissu dans les régions profondes du cerveau. Mais elle n'est pas complètement satisfaisante. En effet, certains patients ont plus de taches blanches que d'autres avec un cerveau plus gros.

Il pourrait s'agir d'un œdème inter myélinique (la myéline est la gaine des neurones) à l'origine d'une augmentation de l'eau dans la substance blanche qui apparaît gonflée (œdème de la substance blanche).

4- M. Clément HUNEAU Post-doctorant

Si un futur médicament est destiné aux jeunes adultes porteurs du gène muté dans le but de prévenir le développement de la maladie quelques dizaines d'années plus tard, comment vérifier qu'il est efficace ?

De nouvelles méthodes d'évaluation sont nécessaires pour trouver un éventuel dysfonctionnement bien avant les premiers symptômes de la maladie et identifier si cette

nouvelle mesure peut être utilisée pour quantifier l'effet du traitement.

Ainsi, au début de la maladie, on a observé chez la souris des lésions et un œdème dans la substance blanche. Cet œdème est-il aussi visible chez l'homme, au début de la maladie ? Peut-on le mesurer, suivre son évolution pour déterminer l'effet d'un traitement ? Ce domaine est étudié par le Dr Jouvent, par l'IRM 7 Teslas.

De plus, Clément Huneau, docteur ingénieur, explore actuellement la dysfonction neuro vasculaire en utilisant des nouvelles méthodes en imagerie cérébrale. Cette étude est supervisée par le Pr Chabriat.

Il s'agit d'évaluer le couplage neurone-vaisseau dans CADASIL.

Ce projet est réalisé grâce au financement de la fondation américaine Leducq.

Quand nous faisons un geste, cela active les neurones d'une zone dans l'hémisphère correspondant du cerveau. Les neurones ont besoin d'énergie pour fonctionner, c'est-à-dire de glucose et d'oxygène qui sont apportés par les vaisseaux sanguins autour des neurones. Les neurones réclament de l'énergie en suscitant une augmentation du débit sanguin, de façon locale et transitoire.

Le mécanisme est le suivant : l'activité neuronale provoquée par un stimulus est captée par les cellules contractiles au sein des vaisseaux pour qu'ils se dilatent et contractent.

Or, la protéine NOTCH3 se situe sur les cellules contractiles...

Pour savoir si le couplage du débit sanguin à l'activité des neurones est altéré chez les personnes porteuses du gène muté *NOTCH3*, à un stade précoce, l'examen suivant est réalisé :

- Les participants à cette étude passent un examen IRM au cours duquel des stimulations (visuelles ou motrices) sont réalisées.
- Un électroencéphalogramme mesure leur activité neuronale.
- L'IRM permet de quantifier le débit sanguin.

Cette étude est conduite sur soixante personnes, dont trente sont porteuses du gène muté. Dix participants ont déjà réalisé cet examen, qui dure environ deux heures. Les premiers résultats sont très encourageants.

Des modèles mathématiques seront utilisés pour comprendre les liens entre les signaux de l'IRM et les signaux électriques de l'encéphalogramme et les comparer entre les trente participants-témoins (qui n'ont pas la maladie) et les trente porteurs du gène muté *NOTCH3*.

Assemblée générale du 21 mars 2015

Questions des adhérents et participants

« Faut-il attendre impatiemment la majorité de notre enfant pour effectuer un test génétique de CADASIL ? Ne peut-on pas passer outre ? »

Réponse. Le Pr Tournier-Lasserre indique que la réalisation d'un test génétique chez un enfant asymptomatique est très encadrée par la loi. Ce type de test n'est autorisé qu'en cas de bénéfice direct et immédiat pour lui. Or, il n'y aurait actuellement aucun bénéfice direct et immédiat pour un enfant qui aurait un apparenté atteint de CADASIL (maladie dont l'âge de début moyen est voisin de 50 ans), ce qui explique la non réalisation de ce type de test chez un enfant. Celui-ci pourra, lorsqu'il sera adulte, décider lui-même, s'il le souhaite, de faire, ou pas, ce test génétique. Cette décision n'est pas anodine et nécessite mûre réflexion. L'équipe du CERVCO a mis en place un accompagnement dans cette démarche. Ce protocole est décrit sur le site internet de CADASIL France.

« Le caryotype est-il fiable à 100 % ? Peut-il déterminer une faille à ce sujet et nécessiter un avortement ? »

Réponse. Le Pr Tournier-Lasserre précise que le caryotype (analyse morphologique, en nombre et structure, des chromosomes) ne permet pas de faire le diagnostic de la maladie CADASIL. C'est un test visant à rechercher la présence d'une anomalie chromosomique (chromosome surnuméraire ou anormal).

Le test génétique permettant de faire le diagnostic de CADASIL est quant à lui un séquençage du gène *NOTCH3*. Sa fiabilité, lorsque tous les exons de ce gène connus pour être impliqués dans cette maladie ont été séquencés, est quasi de 100 %. Il est réalisé à l'âge adulte.

Si un couple souhaite mettre au monde un enfant qui n'ait pas le risque d'être porteur du gène muté, alors qu'un des futurs parents l'a (ou n'a pas fait le test, mais a le risque car un de ses propres parents est atteint), une démarche de Diagnostic Pré-Implantatoire ou de Diagnostic Pré-Natal peut-être engagée, de façon également très encadrée.

Les sujets du DPI et du DPN sont documentés sur le site www.cadasil.com.

« Comment prévoir une hospitalisation à domicile en cas de besoin (perfusion, etc., ...) pour éviter les urgences et hospitalisations et maintenir autant que possible le maintien à domicile »

Réponse. Mme Morel, assistante sociale au CERVCO, indique que le médecin traitant peut faire appel aux SSIAD (Services de Soins Infirmiers A Domicile) pour les soins infirmiers et d'hygiène générale ainsi que pour l'aide à l'accomplissement des actes essentiels de la vie. L'objectif est de prévenir ou différer l'entrée à l'hôpital ou dans un établissement d'hébergement ainsi que de raccourcir, lorsque cela est possible, les séjours hospitaliers.

Un patient atteint de CADASIL pour lequel une telle organisation de soins a été mise en place à domicile, peut craindre, ainsi que son entourage, de devoir aller aux urgences et de subir une hospitalisation.

L'hospitalisation à domicile peut sembler plus rassurante, mais lorsque des soins plus techniques et complexes sont nécessaires, une prise en charge à domicile rattachée à l'hôpital n'est pas toujours possible.

En cas de passage aux urgences ou d'hospitalisation, il est très utile que la personne atteinte de CADASIL porte la carte malade conçue par l'association, que les équipes médicales consultent la carte d'urgence CADASIL sur le site Orphanet et contactent le CERVCO, si nécessaire.

« Que préconisez-vous pour un accouchement par voie basse ou une césarienne sachant que ma fille attend son troisième enfant ? Elle a déjà fait un AVC (sans conséquences) lors de l'accouchement de son deuxième enfant (ma fille et moi sommes porteurs du gène muté de CADASIL) »

Réponse (Pr Chabriat et Dr Hervé). Il n'y a pas d'étude précise au sujet des risques liés à l'accouchement chez une femme ayant une mutation

génétique responsable de CADASIL ni de données collectées dans le cadre du protocole de suivi.

Dans la majorité des cas, CADASIL ne génère des symptômes qu'après l'âge où les femmes mettent des enfants au monde et il n'a pas été observé que la grossesse favorise l'éclosion de la maladie ou le risque d'AVC. Il n'y a donc pas de recommandation qui pourrait être systématiquement donnée aux femmes enceintes qui se savent porteuses du gène muté.

Dans la population générale, la période post-partum est une phase où la femme est moins protégée et où le risque d'AVC et de migraines sévères avec aura est plus important. Il est aussi possible que votre fille présente un facteur de risque autre que CADASIL. Son gynécologue, connaissant son dossier médical, pourra la conseiller et prévoir un suivi particulier avant et durant l'accouchement. Il peut contacter l'équipe médicale du CERVCO pour avis.

« Je dois subir une opération orthopédique (hallux valgus). Avez-vous des recommandations à faire en ce qui concerne l'anesthésie ? »

Réponse (Pr Chabriat et Dr Hervé). L'âge et l'état de santé au moment de l'intervention sont pris en compte par l'anesthésiste, qu'il faut informer des symptômes que vous avez déjà rencontrés du fait de la maladie. Vous pourrez lui présenter la carte malade conçue par l'association, lui recommander de consulter la carte d'urgence CADASIL sur le site Orphanet et le Protocole National de Diagnostic et de Soins de CADASIL sur le site de la Haute Autorité de Santé (HAS). Ces documents indiquent qu'en cas d'anesthésie locale ou régionale, des précautions doivent être prises pour éviter les variations tensionnelles brutales.

« Pouvez-vous nous informer des différents protocoles et recherches annoncés ces dernières années : laboratoire Danois, IRM 7 Teslas, cellules souches avec une équipe anglaise, etc. ? »

Réponse (Pr Chabriat). Ces différents sujets ont fait l'objet de présentations durant les différentes interventions ce jour..

« Est-ce que la ménopause est une période à risque, car il semble qu'avant les symptômes soient en général moins importants chez les femmes ? »

Réponse (Pr Chabriat). Le protocole de suivi d'environ 300 patients au CERVCO et par l'équipe allemande depuis 2003 a permis de déterminer que les femmes présentent des symptômes moins importants que les

hommes jusqu'à l'âge de la ménopause. L'état hormonal semble avoir une influence sur l'évolution de la maladie et pourrait avoir un effet protecteur. La ménopause est cependant inévitable. On ne peut pas dire que ce soit une période « à risque », mais elle marque une étape où l'évolution de la maladie pourrait s'accroître. On ne peut pas dire formellement que l'hormonothérapie substitutive est recommandée pour une femme atteinte de CADASIL. Elle est déconseillée dans les familles avec une forte fréquence de cas de cancers, mais elle peut être justifiée pour des personnes souffrant de bouffées de chaleur et de déprime.

« Les médicaments anti-rhume, en vente libre, qui ont un effet vasoconstricteur, sont-ils déconseillés, car ils exposeraient à des risques d'AVC et troubles neurologiques ? »

Réponse (Pr Chabriat). L'automédication doit toujours être prudente ! Concernant les médicaments anti-rhume pour décongestionner le nez bouché, vendus sans ordonnance et ayant un effet vasoconstricteur (qui resserre les vaisseaux sanguins), il vaut mieux les éviter. Le sérum physiologique est une autre option aussi efficace...

« En espérant que l'essai sur les souris du Dr Joutel soit positif, pouvez-vous nous informer à propos des étapes à surmonter pour arriver à un médicament utilisable par les patients ? Au mieux combien de temps cela pourrait prendre ? »

Réponse (Pr Chabriat et Dr Joutel). L'objectif des études de l'équipe du CERVCO et des chercheurs en France et dans le monde est de définir une stratégie thérapeutique.

Progressivement, nous connaissons la maladie de façon plus précise. Nous pouvons aussi désormais déterminer la composition d'un groupe nécessaire pour montrer l'efficacité d'un traitement et sur quels paramètres cette efficacité devrait être mesurée.

En collaboration avec un laboratoire pharmaceutique Danois, nous avons montré un effet bénéfique de la molécule X (appelée ainsi pour des raisons de propriété intellectuelle) sur certaines des manifestations de la maladie. Ces résultats ont été obtenus dans un premier modèle de souris CADASIL. Il faut maintenant les confirmer dans un deuxième modèle de souris. Puis il faudra en étudier les mécanismes exacts ainsi que la toxicité éventuelle. Tout cela devrait prendre encore quatre ou cinq ans. Si la molécule s'avère réellement efficace et non

toxique chez l'animal, il faudra ensuite la modifier avant de pouvoir la tester chez l'homme.

Ces avancées sont déjà considérables. Le gène de CADASIL a été identifié en 1996. En « seulement » vingt ans, d'un point de vue scientifique, les progrès ont été rapides. Nous pouvons être confiants en l'avenir. Bien qu'il s'agisse d'une maladie rare, les connaissances acquises dans le cadre des recherches sur CADASIL peuvent avoir par ailleurs un intérêt beaucoup plus général. Ceci est important pour qu'un laboratoire pharmaceutique investisse dans la mise au point et l'évaluation d'un traitement.

« Nous aimerions pouvoir bénéficier des mêmes conditions de suivi auprès des neurologues en région que ceux pratiqués au CERVCO et que ces données puissent être transmises à la base de données. Or cela ne semble pas possible ou tout au moins très compliqué. C'est dommage. Est-il possible de réfléchir à une solution pour permettre de transmettre au CERVCO au moins un minimum de données sécurisées concernant le suivi par un neurologue ? »

Réponse (Pr Chabriat et Dr Hervé). L'équipe du CERVCO a constitué un réseau de neurologues et de cliniciens de différentes spécialités médicales dans les principaux centres hospitaliers en province. Ils collaborent avec l'équipe parisienne pour le suivi des patients atteints de CADASIL dans leurs régions. Cependant, cette collaboration, basée sur le volontariat, ne permet pas de garantir que vous puissiez être suivi par un correspondant du CERVCO qui soit proche de votre domicile.

Une prise en charge de qualité peut aussi être proposée par des équipes très compétentes ne faisant pas partie de ce réseau.

Votre neurologue peut se référer au Protocole National de Diagnostic et de Soins de CADASIL sur le site de la Haute Autorité de Santé et contacter le CERVCO.

De plus, depuis quelques mois le CERVCO est rattaché à une filière de santé (Brain Team), regroupant plusieurs centres de référence en charge de maladies rares à expression motrice ou cognitive du système nerveux central (Huntington, dystonies, etc.). L'objectif est de mutualiser certains moyens pour limiter l'errance diagnostique, mieux coordonner la prise en charge, organiser la collecte de données cliniques et les actions de recherche, etc. Le Dr Hervé est le principal représentant du CERVCO dans cette filière.

« Est-ce que CADASIL a un impact sur la voix et la vue ? Difficultés à articuler, altération de la voix. Ma vue baisse beaucoup, mes yeux pleurent, ... »

Réponse (Dr Chabriat et Dr Hervé). Les lésions cérébrales causées par la maladie de CADASIL peuvent occasionner des troubles de la communication qui peuvent concerner le langage (aphasie) et/ou la parole (dysarthrie) pour lesquels une rééducation orthophonique peut s'avérer nécessaire.

Par contre, les troubles de la vue très progressifs associés à un larmoiement, tels que vous les décrivez, ne correspondent pas à un symptôme de la maladie.

« Concernant le don de son corps à la science : quelles formalités avant ? Comment le faire savoir et surtout dans quel délai est-il transféré ? Que devient le corps ? Est-il rendu en cendres, à la famille ? Etc... ceci pour informer la famille »

Réponse (Dr Joutel). Le don du corps pour la science est différent du don d'organes ainsi que du don de cerveau.

Le don de son corps a pour but au moment du décès qu'il soit affecté à des fins d'enseignement et de recherche.

Le don d'organes est le prélèvement d'organes et de tissus d'un corps humain (d'un donneur) pour traiter des patients (receveurs) dont les organes essentiels sont gravement atteints. Le prélèvement chirurgical peut s'effectuer sur des personnes en état de mort cérébrale ou sur des personnes vivantes (par ex. don d'un rein).

Le don de cerveau pour la recherche doit faire l'objet d'un consentement de la personne de son vivant. Au moment de son décès, le corps est transporté dans l'un des quinze centres agréés en France pour faire le prélèvement de cerveau. Le cerveau est ensuite conservé dans une « banque de tissus » telle que le GIE Neuro-CEB à la Pitié Salpêtrière.

Le GIE Neuro CEB met des échantillons de cerveaux à la disposition de chercheurs dont le projet scientifique a été au préalable agréé par des spécialistes de la pathologie concernée.

Le don fait par des personnes qui ne sont pas atteintes de pathologies neurologiques est également indispensable pour disposer de tissus « témoins ».

L'analyse post mortem de tissus cérébraux de patients atteints de maladies neurodégénératives peut donner des renseignements inestimables et permettre d'évaluer des voies de recherche. CADASIL France et le GIE Neuro-CEB peuvent vous apporter des informations complémentaires à ce sujet.